

ENRACINEMENT ET ACCLIMATATION DE VITRO-PLANTS FORESTIERS

O., Monteuis and M.C. BON

ASSOCIATION FORET-CELLULOSE (AFOCEL)

Domaine de l'Etançon, 77370 NANGIS (France)

RESUME : Dans le contexte général de la multiplication des arbres forestiers, la micropropagation est présentée comme une voie complémentaire et utile des techniques horticoles plus traditionnelles. L'enracinement, aboutissement de manipulations antérieures souvent longues et délicates, est une étape cruciale qu'il faut optimiser. De ce point de vue, l'état physiologique et le degré de juvénilité des explants sont des facteurs très influents pour assurer la reproduction végétative conforme (clonage) souhaitée. Après un aperçu des possibilités offertes par la culture *in vitro* pour favoriser un bon conditionnement rhizogène du matériel, différentes techniques d'enracinement sont présentées, dont la variété reflète les particularités spécifiques. Il faut éviter de laisser les racines se développer trop longtemps dans le milieu gélifié, et les vitro-plants sont repiqués dès que possible dans un substrat horticole approprié. L'acclimation progressive, en s'entourant de précautions élémentaires, est facilitée par un appareil racinaire néoformé de qualité, dont dépend l'avenir des plants.

Mots clés : acclimation, clonage, enracinement, espèces forestières, état physiologique, micropropagation.

1. MICROPROPAGATION ET SYLVICULTURE

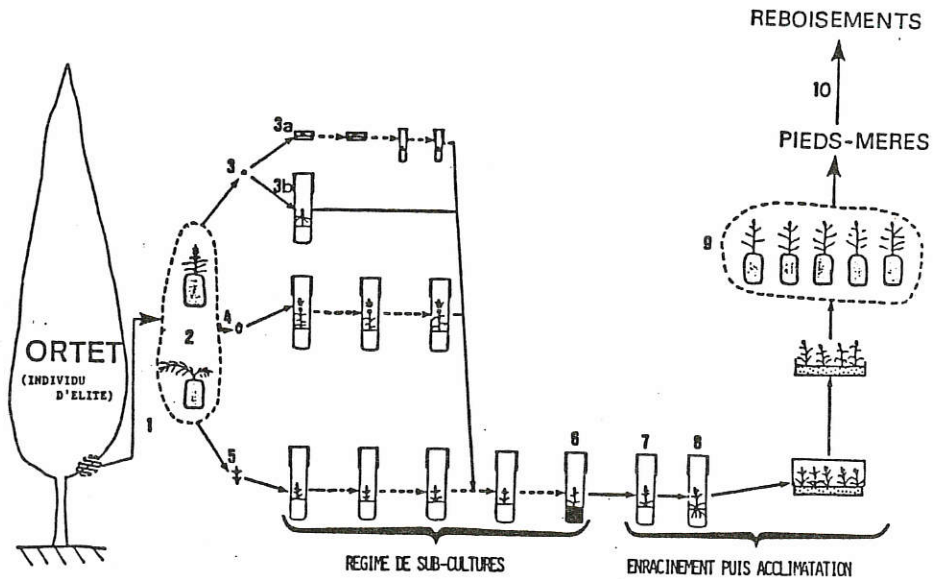
La micropropagation est un outil de multiplication végétative dont l'efficacité reconnue est largement mise à profit pour bon nombre d'espèces végétales, comme l'illustre le symposium Florizel 87. Objectivement, et essentiellement en raison d'arguments économiques, cette technique bien particulière de propagation se justifie, dans le contexte général de la pépinière forestière, pour remédier aux limites et aux insuccès de la multiplication de certains ligneux en conditions traditionnelles : cas d'espèces récalcitrantes (merisiers) ou d'individus âgés que l'on souhaite cloner (FRANÇLET et al., 1987)*. Pour un matériel présentant une bonne aptitude au clonage, l'expérience montre que les techniques de bouturage horticole sont encore les plus avantageuses à l'échelle industrielle pour assurer des reboisements de qualité, avis

* Soulignons, à cette occasion, qu'en matière de sylviculture clonale, le clonage doit permettre à travers la préservation du patrimoine génétique (notion de copie génétique), la perpétuation ontogénique conforme de la tête de clone, afin de garantir l'homogénéité intra-clonale recherchée, au niveau de la forme notamment : il s'agit donc de clonage conforme.

SYMPOSIUM FLORIZEL 87 Arlon - BELGIUM

PLANT MICROPROPAGATION IN HORTICULTURAL INDUSTRIES

Fig . 1 . EXEMPLES D'UTILISATION DE LA
MICROPROPAGATION POUR LA FORESTERIE



1. Phase de mobilisation
2. Obtention, par greffage ou bouturage, de pieds-mères
3. Cultures de méristèmes sur milieux gélosés (3a) ou microgreffage (3b)
4. Greffages réitérés "en cascade" d'extrémités apicales
5. Microbouturage
6. Un milieu enrichi en charbon actif est fréquemment utilisé avant l'enracinement.
7. Phase d'induction-initiation racinaire
8. Phase d'expression racinaire
9. Obtention de vitro-plants acclimatés et repiqués en conteneurs "anti-chignons"
10. Bouturage horticole du matériel sélectionné issu de micropropagation

partagé par THORPE ET BIONDI (1984). La culture in vitro apparaît donc comme une voie complémentaire de la pépinière classique et l'intégration réussie de ces deux systèmes de production doit permettre la création d'un ensemble symbiotique cohérent et performant. L'apport bénéfique de la micropropagation à la pépinière plus traditionnelle à travers la possibilité de fournir du matériel sélectionné, amélioré et réactivé qui pourra être utilisé sous forme de pieds-mères a été évoqué précédemment ; par ailleurs, il paraît inutile de rappeler les avantages de la maîtrise des pratiques horticoles classiques pour favoriser la réussite de la micropropagation, que ce soit avant l'introduction in vitro -mobilisation par greffage ou par bouturage, greffes en cascade, tailles et recépages- (DURZAN 1984, DUMAS 1987, FRANÇLET et al. 1987, HACKETT 1985), ou lors des phases d'enracinement et de sortie du tube. La continuité entre l'environnement artificiel de la culture in vitro et les conditions naturelles revêt une importance majeure dans le domaine de la sylviculture où la qualité des vitroplants produits, notamment du point de vue de l'appareil racinaire, conditionne la pérennité et la production des plantations installées pour plusieurs décades, surtout pour les systèmes gérés de façon intensive : taillis à courtes rotations, parc à pieds-mères... Dans cet esprit l'enracinement et l'acclimation du matériel précieux et coûteux micropropagé, aboutissement de différentes phases chronologiques antérieures bien souvent longues et fastidieuses, constituent une réelle préoccupation. L'optimisation de ces étapes ultimes de la micropropagation, et par suite l'amélioration de la qualité des vitro plants produits, suppose la prise en considération de certains éléments.

2. APTITUDE DU MATERIEL SELECTIONNE A LA MUTIPLICATION VEGETATIVE

Selon les espèces, l'état physiologique du matériel micropropagé peut être très influent lors des phases de multiplication, d'allongement, d'enracinement et d'acclimation (DURZAN 1984, THORPE ET BIONDI 1984). Cette aptitude à la multiplication végétative et au clonage est d'autant plus développée au sein d'une espèce que le matériel est juvénile : l'enracinement d'explants provenant d'ortets âgés est généralement laborieux et difficile ; de plus, les ramets enracinés présentent à l'intérieur d'un même clone des différences de ports, avec des formes plagiotropes plus ou moins marquées, source d'hétérogénéité intraclonale fort préjudiciable (HACKETT 1983). L'exemple des individus fortement plagiotropes (diagéotropes) issus de micropropagation du Sequoia sempervirens ARC 154 -l'arbre le plus haut du monde, âgé de 600 ans environ- et présentés par M. FRANÇLET à Florizel 87, illustre de façon tout à fait évidente que le clonage d'arbres forestiers ne saurait se résumer à l'enracinement, et rend compte de la nécessité de rajeunir préalablement le matériel à cloner. Plusieurs équipes travaillent depuis plusieurs années sur ce thème délicat et la découverte de marqueurs fiables, aussi simples que possible, et véritables de l'état de maturité des tissus manipulés motive à juste raison chercheurs et praticiens (HACKETT, 1985). La disparité des facultés de régénération végétative, rhizogénèse adventive par exemple, remarquée pour certaines essences à l'intérieur d'un même clone, peut provenir de l'influence de l'emplacement de l'explant au sein de l'ortet d'origine (BONGA, 1987, DURZAN, 1984, FRANÇLET et al., 1987), appréhendée d'un point de vue physiologique par certains composés intervenant dans le métabolisme auxinique (peroxydases, phénols) (JAY-ALLEMAND, 1985, MONTEUUIS et BON, 1986), et en étroite relation avec les capacités rhizogènes (VERSCHOORE-MARTOUZET, 1985). Les effets des paramètres ambiants sur l'activité végétative des ortets, notamment en conditions naturelles par le jeu des variations saisonnières

voire journalières, sont également des éléments à considérer (BONGA, 1987, DAVID, 1982, FRANCKET et al., 1987, VERSCHOORE-MARTOUZET, 1985), au même titre que l'existence d'une éventuelle rythmicité endogène (GUEVARA-BERGER 1985, JAY-ALLEMAND 1985) s'exprimant en environnement constant (régime de sub-cultures in vitro par exemple). Les analyses au moyen d'électrophorégrammes indiquent des changements au niveau de la composition en protéines d'apex de clones juvéniles et âgés de Sequoiadendron giganteum en fonction de deux stades physiologiques bien distincts (stade débourrement et post-allongement (voir fig. 2), et en relation avec la compétence au clonage du même matériel (MONTEUUIS 1987). Conjointement, la mise au point de techniques d'investigation très fines telles que les électrophorèses bidimensionnelles de protéines réalisées à partir d'un seul méristème (200 μ m) devrait faciliter l'étude de ces variations en fonction de références topologiques et temporelles responsables de l'hétérogénéité intraclonale (HACKETT, 1983, VERSCHOORE-MARTOUZET, 1985). Par conséquent, si l'aptitude à la rhizogenèse adventive des espèces arborescentes peut être caractérisée par les cinétiques de composés intervenant dans la régulation auxinique présentées par M. MONCOUSIN à Florizel 87 (BERTHON, 1985, VERSCHOORE-MARTOUZET, 1985, MONTEUUIS et BON, 1986) il faut être conscient des fluctuations possibles de ces manifestations, en fonction des essences et de l'âge du matériel à l'intérieur d'un même clone, et sous l'influence des éléments pré-cités (JAY-ALLEMAND, 1985, MONTEUUIS, 1985, MONTEUUIS et al., 1987, VERSCHOORE-MARTOUZET, 1985).

3. INFLUENCE DES CONDITIONS DE CULTURE EN VUE DE L'ENRACINEMENT

Les conditions de culture in vitro peuvent avoir un réel impact sur le conditionnement des explants en vue de leur enracinement (BONGA, 1987, DAVID, 1982). Ainsi, l'influence bénéfique sur la rhizogenèse d'un régime de subcultures adapté et prolongé sur un milieu de culture approprié a été reconnu pour plusieurs espèces (BOULAY, 1985, WALKER, 1985). Des passages séquentiels sur milieux enrichis en cytokinines (BAP) alternés avec des milieux exempts de substances de croissance mais fortement enrichis en charbon actif (DAVID, 1982) favorisent le rajeunissement de certains clones de Sequoia sempervirens âgés (FOURET et al., 1985), dont les capacités à la rhizogenèse adventive peuvent être estimées par le rapport AIA/ABA notamment (FOURET et al. 1986). Par cette pratique, VERSCHOORE-MARTOUZET (1985) obtient, sur la même espèce, une amélioration de l'aptitude à l'enracinement de son matériel, corrélée à une augmentation de l'activité peroxydasique.

La composition des milieux de culture, à travers sa concentration saline et ses équilibres minéraux, joue un rôle prépondérant dans la préparation à l'enracinement des explants, en assurant avant tout la pérennité et le bon état général des cultures au cours du temps (BEKKAoui, 1986). Sur Sequoiadendron giganteum, nous avons pu remarquer que la composition minérale de Knop, dépourvue entre autres d'ammonium, provoque une réduction sensible de la morphologie foliaire initialement développée, caractéristique des formes juvéniles (MONTEUUIS et BON, 1986). Ce vieillissement morphologique s'accompagne d'un amoindrissement des facultés rhizogènes. Sur ce même conifère, l'effet positif du charbon actif a pu être constaté, en dépit de certaines hétérogénéités en fonction des échantillons prélevés (MONTEUUIS et BON, 1986). Cet additif fréquemment utilisé pour la culture in vitro des ligneux (BOULAY, 1985, DAVID, 1982), en particulier pour les Gymnospermes avant la phase d'enracinement, semble améliorer l'état physiologique des explants en absorbant certains composés phénoliques inhibiteurs d'une bonne réactivité

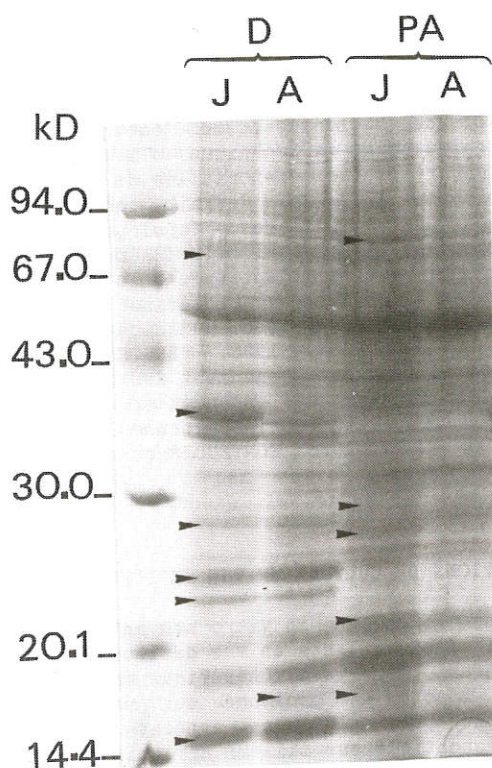


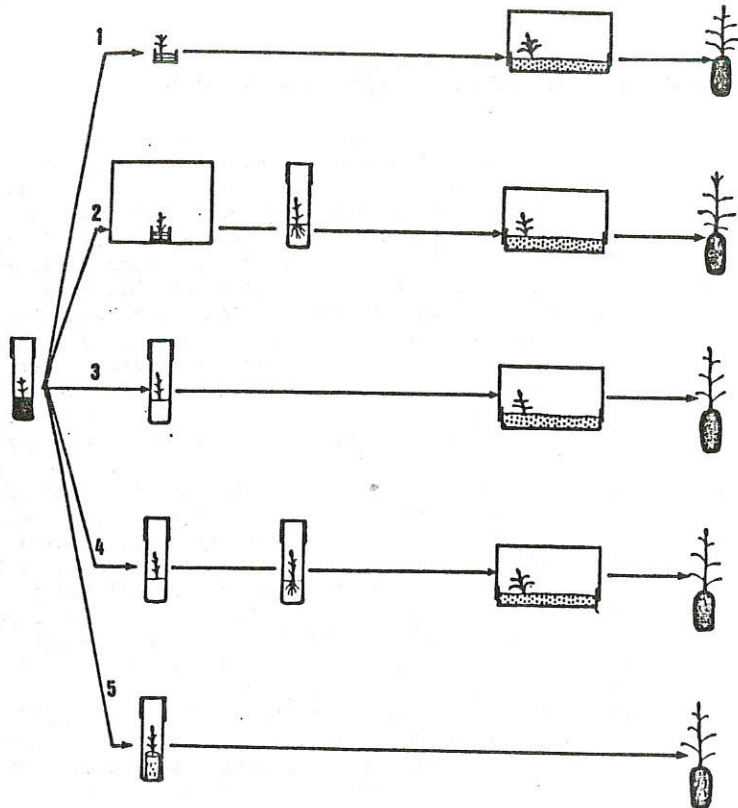
Fig . 2 . Profils protéiques d' apex de Séquoias géants obtenus par électrophorèse monodimensionnelle en SDS PAGE, colorés au bleu de Coomassie . Les profils correspondent aux apex issus de clones juvénile (J) et âgé (A), prélevés au stade de débourrement - " bud break" - (D), et au stade post-allongement (PA). Les modifications protéiques sont signalées par les flèches marginales .

organogène (BON, 1987). Ainsi l'addition de charbon actif dans le milieu de culture favorise l'enracinement spontané en l'absence de quelconque régulateur de croissance. D'autres traitements basés sur des paramètres d'ambiance physiques tels que la température (froid ou thermopériode), la lumière (intensité, photopériode, qualité) (BONGA, 1982) peuvent être préconisés pour certaines espèces afin de stimuler, du point de vue physiologique, leurs potentialités rhizogènes. Dans cette optique et au regard des résultats présentés à l'occasion de Florizel 87, l'enrichissement de l'atmosphère CO₂ mériterait d'être expérimenté sur les essences forestières.

4. ENRACINEMENT, ACCLIMATION ET DEVENIR DES VITRO-PLANTS

L'enracinement, puis l'acclimation, constituent l'aboutissement de diverses manipulations in vitro antérieures et conditionnent l'avenir d'un matériel généralement précieux. Fondamentalement, la rhizogenèse adventive peut être décomposée en trois phases chronologiques : induction, initiation et expression racinaires (MOSELLA-CHANCEL et al, 1980). Selon le matériel végétal concerné, diverses techniques, résumées figure n° 3, sont proposées pour l'accomplissement du processus rhizogène. Pour des raisons pratiques et économiques évidentes, les praticiens cherchent à réduire les manipulations de repiquage in vitro. Dans cet état d'esprit, l'enracinement in vivo à partir de tigelles entretenues sur milieu d'allongement in vitro a été pratiquée à l'échelle semi-industrielle pour des clones de *Sequoia sempervirens* notamment : après un traitement inducteur par trempage rapide de leur base dans une solution pulvérulente ou aqueuse d'"auxines" (AIB, ANA ou AIA), les microboutures sont mises à enracer dans des conditions dérivées et quelque peu améliorées du bouturage horticole (POISSONNIER et al. 1981). Néanmoins cette technique ne paraît pas généralisable et le recours à l'in vitro est nécessaire dans certains cas, pour la phase d'induction-initiation par exemple, à l'issue de laquelle apparaissent des pointes racinaires qui s'allongent in vivo (cas du pin maritime). Contrairement à d'autres espèces ligneuses, les essences forestières se prêtent mal à l'enracinement sur un milieu unique. Des études ont montré la nécessité d'utiliser la succession de 2 milieux (BERTHON, 1985, BOULAY, 1985, DAVID, 1982, MOTT, 1981) : un milieu d'induction-initiation enrichi d'une substance rhizogène (AIA, ANA ou AIB), puis un milieu d'expression racinaire, exempt d'auxine, qui permettra l'allongement des racines initiées antérieurement. Bien évidemment, les conditions de culture durant l'enracinement sont très influentes, et d'autant plus que le matériel est âgé (voir BEKKAOUI et al. 1984) ; ainsi il peut être bénéfique de diminuer la concentration minérale, éventuellement d'adopter d'autres équilibres minéraux ou de réduire la concentration en saccharose (BOULAY, 1985, DAVID, 1982). L'environnement physique, lui non plus, n'est pas à négliger, notamment du point de vue de la lumière et de la température (BEKKAOUI, 1984, BOULAY, 1985, WALKER, 1987), l'effet d'autres facteurs (CO₂) méritant d'être analysé. Quoiqu'il en soit, la gélose ne semble pas offrir les caractéristiques requises pour le développement d'un appareil racinaire adapté aux conditions naturelles ultérieures (BOULAY, 1985), et il est recommandé de repiquer précocement dans un substrat horticole convenable les vitro-plants enracinés in vitro. La dégénérescence, après transfert in vivo, des systèmes racinaires néoformés bien développés en milieu gélosé est un indice révélateur, même si de nouvelles racines apparaissent à partir des structures initiales (BOULAY, 1985, MONTEUUIS et BON, 1986). D'autre part, des coupes de microscopie permettent de se rendre compte aisément des particularités des racines poussant en milieu gélosé (structures plus lacuneuses, cellules hypertrophiées). Cette dégénérescence peut néanmoins être évitée en repiquant les microboutures

Fig . 3 . DIFFERENTES TECHNIQUES D'ENRACINEMENT



1. Enracinement in vivo : trempage dans une solution de substances rhizogènes (traitement inducteur) , puis repiquage en substrat horticole (POISSONNIER et al. , 1981)
2. Trempage en conditions stériles dans une solution de substances rhizogènes puis repiquage in vitro où les racines s'allongeront (GUPTA et al. , 1983)
3. Induction - initiation racinaire in vitro puis repiquage en substrat horticole pour favoriser l'expression racinaire (technique utilisée pour le pin maritime à l'AFOCEL, DUMAS, 1987, voir aussi RANCILLAC et al. , 1982)
4. Phases d'induction-initiation, puis d'expression racinaire réalisées in vitro (BEKKAQUI et al. , 1984)
5. Enracinement in vitro sur milieu unique (substrat fibreux approprié) ; cette technique prometteuse est actuellement à l'étude à l' AFOCEL

enracinées in vitro sur des caissons de brouillard nutritif, avant l'acclimatation proprement dite in vivo (GUEVARA-BERGER, 1985, MONTEUUIS et BON, 1986). Face à cette situation, nous fondons beaucoup d'espairs quant à l'utilisation de substrat de culture in vitro fibreux, hydrophiles neutres et résistant à l'autoclavage qui devraient favoriser une bonne rhizogenèse puis faciliter l'acclimatation en réduisant les manipulations et transferts intermédiaires. Conjointement, ce type de support facilite les possibilités de mycorhization, ce qui constitue un atout supplémentaire.

Sous réserve de s'entourer des précautions élémentaires, (BONGA, 1982, MOTT, 1981, POISSONNIER et al., 1981 et 1984, THORPE et BIONDI, 1984) -en contrôlant notamment le degré hygrométrique, la température voire la lumière-, l'acclimatation de plantules correctement enracinées in vitro s'effectue de façon tout à fait satisfaisante. A l'instar de nos expérimentations en matière de bouturage traditionnel, la composition du substrat horticole de repiquage, ou dans certains cas d'expression racinaire (voir 1, figure 3), est nettement influente sur la qualité des plants cultivés issus de micropropagation. Le choix se porte sur des mélanges à bases d'écorces de pins compostées et tamisées, de perlite et surtout de tourbe blonde, matériau aux propriétés remarquables, dans des proportions adaptées aux espèces multipliées et en fonction des conditions de culture. Ce type de substrat organique favorise le développement d'un appareil racinaire bien conformé et ramifié dont les bienfaits s'expriment au fil des ans à travers la vigueur et le port des sujets. En aucune manière, il ne faut négliger l'incidence de la nature du substrat de repiquage, qui sous une forme mal adaptée, risque d'entraîner une dégénérescence des plants issus de culture in vitro, en augmentant par exemple considérablement les manifestations de plagiotropisme de matériel pourtant juvénile. L'étude de l'appareil racinaire néoformé des vitro plants, à plus forte raison lorsqu'il s'agit d'espèces arborescentes, constitue un thème de recherches fondamental, en investissant notamment dans les relations tiges-racines pour tenter de solutionner la plagiotropie. Ces préoccupations s'inscrivent dans la continuité de travaux antérieurs, à l'origine d'acquis et de préceptes qui ne doivent pas être négligés : influence du cernage, choix des conteneurs pour éviter la formation de "chignons" racinaires, ...

Dans la situation actuelle, afin de s'entourer de garanties nécessaires quant à la qualité des reboisements et en raison des coûts prohibitifs de production de vitro plants, la solution suivante paraît judicieuse et prudente pour certaines espèces : le matériel végétal de haute qualité et réactif obtenu en quantité limitée au terme de cultures in vitro onéreuses pourrait être préférentiellement destiné à une vocation de pieds-mères (voir DUMAS, 1987) qui assureront sa diffusion à grande échelle par des techniques de bouturage horticole éprouvées et plus économiques. La sélection sur la qualité du matériel s'effectue ainsi tout naturellement en pépinière sur la propension de ces pieds-mères issus d'in vitro à fournir de bonnes boutures.

5. CONCLUSION

Il est de plus en plus évident, à travers des manifestations comme Florizel 87 par exemple, qu'une continuité doit s'instaurer entre certains secteurs de la micropropagation et les techniques de multiplication plus traditionnelles. Cette fusion est particulièrement souhaitable en ce qui concerne la culture in vitro d'espèces arborescentes forestières, comme nous l'avons exposé en guise d'introduction. La communication doit s'établir tout à fait en amont des systèmes de

production, lors de l'introduction de matériel végétal, mais surtout lors de phases d'enracinement et d'acclimatation qui font de plus en plus appel à une sophistication des éléments techniques de la pépinière horticole : "Fog system", lumière d'appoint, enrichissement en CO₂, substrats fibreux, greffages miniaturisés et réitérés, etc... L'analyse objective des avantages et des inconvénients des deux systèmes trop souvent isolés doit faciliter leur intégration à travers leur complémentarité. Cette attitude rationnelle, alliée à une bonne connaissance du matériel à propager, devrait garantir un bel avenir à la multiplication végétative des arbres forestiers, tout en permettant de solutionner encore bon nombre de problèmes liés à l'enracinement (MOTT, 1981). Les travaux se poursuivent dans ce sens à l'AFOCEL.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEKKAOU F., ARNAUD Y., LARRIEU C. et MIGINIAC E. 1984. 'Etude comparative de la rhizogenèse in vitro du Sequoia sempervirens chez deux clones d'âges différents'. Annales A.FO.CEL. 1983 : 4-25
- BEKKAOU F., 1986. 'Microbouturage in vitro et culture de méristèmes de douglas (Pseudotsuga menziesii): problèmes physiologiques liés à l'âge et au milieu de culture'. Thèse d'établissement, Université de Paris VI, 173 p.
- BERTHON, J.Y.. 1985. 'Etude d'un marqueur biochimique de la rhizogenèse de Sequoiadendron giganteum (Lindl) bulchholz cultivé in vitro'. D.E.A., Université de Clermont II : 52 p.
- BON M. C., GENDRAUD M. et FRANCIET A. 'Roles of phenolic compounds on micropropagation of juvenile and mature clones of Sequoiadendron giganteum : Influence of activated charcoal'. Scientia Horticulturae : sous presse.
- BONGA J.M., 1982. 'Tissue Culture Techniques'. Dans : Tissue culture in forestry. Eds. J.M Bonga, D.J. Durzan, Martinus Nijhoff, Dr. W. Junk Publishers : 4-30
- BONGA J.M., 1987. 'Clonal propagation of mature trees : problems and possible solutions'. Dans : Cell and tissue culture in forestry. Ed. J.M. Bonga et D.J. Durzan, Canadian forestry Service, University of California. Vol.1, 249-270
- BOULAY M. 1985. 'Aspects pratiques de la multiplication in vitro des essences forestières'. Annales AFOCEL. 1984 : 7-43
- DAVID A. 1982. 'In vitro propagation of Gymnosperms'. Dans : Tissue culture in forestry. Ed. J.M. Bonga, D.J. Durzan, Martinus Nijhoff, Dr. W. Junk Publishers : 72-105
- DUMAS E. 1987. 'Micropropagation d'un clone âgé de Pin maritime en vue de l'obtention de pieds-mères'. Annales AFOCEL. 1986 : 95-107
- DURZAN J.D. 1984. 'Special problems : adult vs. juvenile explants'. Dans : Hand book of plant cell culture. Eds. W.R. Sharp, D.A. Evans, P.V. Aminto, et Y. Yamada Collier Macmillan Vol.2 : 471-503
- FOURET Y., ARNAUD Y., LARRIEU C. 1985. 'Rajeunissement in vitro du Sequoia sempervirens'. Annales AFOCEL. 1984 : 111-137
- FOURET Y., ARNAUD Y., MALDINEY R., SOTTA B., MIGINIAC E. 1986. 'Relation entre rhizogenèse et teneur en auxine et acide abscissique chez trois clones de Sequoia sempervirens Endl. issus d'arbres d'âge différent'. C.R. Acad. Sci. Paris 303 : 135-138
- FRANCIET A., BOULAY M., BEKKAOU F., VERSCHOORE-MARTOUZET B., WALKER N. 1987. 'Rejuvenation. Dans : Cell and Tissue Culture in Forestry'. Eds. BONGA J.M., DURZAN D.J. Canadian Forestry Service/ Université of California Vol.1 : 232-248
- GUEVARA-BERGER E. 1985. 'Croissance et morphogenèse du pêcher-amandier (Prunus persica x amygdalus) c.v.G.F.-677, cultivé in vitro, puis en conditions phytotroniques diverses' Thèse de troisième cycle, Université de Clermont II : 155 p.
- GUPTA P.K., MEHTA U.J., MASCARENHAS A.F. 1983. 'A tissue culture method for rapid clonal propagation of mature trees of Eucalyptus torrelliana and Eucalyptus camaldulensis'. Plant cell reports -2 : 296-299
- HACKETT W.P. 1983. 'Phase change and intra-clonal variability'. Hort Science 18 : 840-844

- HACKETT W.F. 1985. 'Juvenility, maturation and rejuvenation in woody plants'. *Hortic. Rev.* 7 : 109-155
- JAY-ALLENAND C. 1985. 'Les marqueurs biochimiques de la juvénilité chez le noyer (Juglans nigra et Juglans regia)'. Thèse d'établissement, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 272 p.
- MONTEUUIS O. 1987. 'In vitro meristem culture of juvenile and mature Sequoiadendron giganteum'. *Tree physiol.* : sous presse.
- MONTEUUIS O., BON M.C. 1986. Microbouturage du Séquoia géant. *Annales A.F.O.CEL.* 1985 : 49-87
- MONTEUUIS O., BON M.C., BERTHON J.Y. 1987. 'Micropropagation aspects of Sequoiadendron giganteum juvenile and mature clones'. *Acta Horticulturae* : sous presse.
- MOSELLA-CHANCEL L., MACHEIX J.J., JONARD R. 1980. 'Les conditions du microbouturage in vitro du pêcher (Prunus persica Batsch) : influences combinées des substances de croissance et de divers composés phénoliques'. *Physiol. Vég.* 18 : 597-608.
- MOTT R. L. 1981. 'Trees'. Dans : *Cloning Agricultural Plants via in vitro techniques*. Ed. B.V., Conger C.R.C. Press. Inc. Boca Raton, Florida : 217-247
- POISSONNIER M., FRANCKET A., DUMANT M.J., GAUTRY J.Y. 1981. 'Enracinement de tigelles in vitro de Sequoia sempervirens'. *Annales AFOCEL.* 1980 : 231-253
- POISSONNIER M., DUMANT M.J., FRANCKET A. 1984. 'Acclimatation de clones d'eucalyptus multioliés in vitro'. *Annales AFOCEL.* 1983 : 55-81
- RANCILLAC M., FAYE H., DAVID A. 1982. 'In vitro rooting of cloned shoots in Pinus pinaster'. *Physiol. Plant.* 56 : 97-101
- THORPE T.A., BIONDI S. 1984. 'Conifères'. Dans : *Handbook of plant Cell Cultures*. Ed. Sharo W.R., Evans D.A., Ammirato P.V., Yamada Y. Collier Macmillan Vol. 2 : 435-470
- VERSCHOORE-MARTOUZET B. 1985. 'Etude de la variation topophysique au cours du clonage de Sequoia sempervirens (Endlicher)'. Thèse de troisième cycle, Université Paris VI : 146 p.
- WALKER N., DUMAS E., FRANCKET A., BEKKAOUI F. 1985. 'Technique de culture in vitro des méristèmes de Sequoia sempervirens et Pinus pinaster'. *Annales AFOCEL.* 1984 : 87-109
- WALKER N., JACQUES R., MIGINIAC E. 1987. 'Action of light on rooting in vitro and acclimatization of Sequoia sempervirens to soil'. *Acta horticulturae* : sous presse.

SUMMARY

Rooting and acclimatization of vitro-plants for forestry

Abstract : Considering the general context of forestry tree propagation, micropropagation appears as a complementary and useful way of usual nursery techniques. Rooting, which is the last step of in vitro cultures involving frequently former long-term and delicate manipulations, should be considered as a crucial operation that requires optimization. In this way, physiological state and juvenility of tissues are determining to ensure satisfactory cloning. Some possibilities of in vitro culture to favor an appropriated rooting preparation of the explants are exposed, following by a review of the main rooting techniques applied to various forest species. As soon as possible, rooted explants need to be transferred in vivo in horticultural substrate more adapted for a good development of the root system than gelified media. The quality of the newly formed adventitious roots influences the gradual acclimatization process requiring elementary precautions, and later on, the reforestation success.

Key words : acclimatization, cloning, forest species, micropropagation, physiological state, rooting.